Nicht einzeln im Buchhandel käuflich.

24

Abdruck

aus dem

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde.

Originale.

In Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler,
Greifswald

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, Geh. Reg.-Rat Prof. Dr. M. Braun
Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 15, Hohenzollerndamm 41

56. Band. 1910.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

ROYAL COLLEGE OF SURGEONS OF ENGLAND
26 OCT 11
LIBRARY

Abdruck aus dem
Centralblatt f. Bakteriologie, Parasitenkunde u. Infektionskrankheiten
I. Abteilung. Originale.
Herausgeg. von Prof. Dr. **O. Uhlworm** in **Berlin.** — Verlag von **Gust. Fischer** in **Jena.**
56. Bd. 1910. Heft 3/4.

Nachdruck verboten.

Ueber den Einfluss physikalisch schädigender Agentien (Wärme) auf das Wachstum der Tumorzellen.

[Aus dem Laboratorium für experimentelle Pathologie der University of Pennsylvania, Philadelphia.]

Von **Ellen P. Corson White** und **Leo Loeb.**

Mit 7 Figuren.

Vor einer Reihe von Jahren zeigte der eine von uns [1]), daß es möglich ist, die Wachstumsenergie von Tumoren künstlich herabzusetzen. Zwischen der vollen Virulenz der Tumoren und dem Tode der Tumorzellen ließ sich ein Zwischenstadium einschieben, in dem die Tumorzellen zwar noch am Leben waren, aber mit bedeutend verringerter Energie wuchsen. Loeb konnte ferner zeigen, daß eine gewisse Anzahl dieser Tumoren nach zeitweiligem Wachstum in ihrem Wachstum stillstand und sich sodann zurückbildete. Eine solche künstliche Herabsetzung der Wachstumsenergie ließ sich auf zweierlei Weise erzielen: 1) durch Anwendung physikalischer Agentien (Wärme) und 2) durch chemische Mittel (KCN, Glyzerin). Vor der Transplantation wurden die ausgeschnittenen Tumorstücke in vitro der Einwirkung der verschiedenen Agentien unterworfen. Derselbe Autor stellte dann fest, daß es möglich ist, durch Anwendung mechanischer Reize (Durchziehen eines Fadens, Ausschneiden eines Tumorstückes) die Wachstumsenergie künstlich zu steigern [2]). Diese Befunde stellten den ersten Versuch dar, die Wachstumsenergie von Tumoren künstlich zu beeinflussen, und dieselben wurden in der Folge von einer Reihe von Forschern bestätigt und erweitert.

1) Loeb, Leo, Virchows Archiv. Bd. 172. 1903. p. 345.
2) Loeb, Leo, Journ. Med. Research. Vol. 6. 1901; Virchows Archiv. Bd. 167. 1902; Americ. Medicine. Vol. 10. 1905; Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 24.

Trotzdem sind bisher Probleme von großer Bedeutung, die sich an diese Versuche knüpften, nicht in Angriff genommen worden.

Im folgenden sollen nun die quantitativen Beziehungen zwischen der Einwirkung physikalisch-schädigender Agentien und der resultierenden

Tabelle I.

Einfluß der Länge der Zeit, während der die Tumorstücke einer Erwärmung auf Tumoren, die Zahl der erfolgreichen Transplantationen und die Zahl der sich rück-

Dauer der Erwärmung	Anzahl der Versuche	Anzahl der benutzten Mäuse	Latenzzeit Tage	Prozentzahl der erfolgreichen Transplantationen	Prozentzahl der sich rückbildenden Tumoren
Nicht erwärmt	241	1630	Im Durchschnitt 6 Variiert zwischen 5—7	67 Proz.	1,4 Proz.
10 Min.	4	24	Im Durchschnitt $6^1/_2$ Variiert zwischen 5—8	85 Proz.	5 Proz.
15 Min.	45	269	Im Durchschnitt $7^1/_2$ Variiert zwischen 5—9	64 Proz.	$9^3/_5$ Proz.
20 Min.	16	128	Im Durchschnitt 8 Variiert zwischen 6—10	58 Proz.	8 Proz.
26 Min.	99	547	Im Durchschnitt $8^1/_2$ Variiert zwischen 6—10	56 Proz.	11 Proz.
35 Min.	55	430	Im Durchschnitt 10 Variiert zwischen 8—12	76 Proz.	17 Proz.
45 Min.	47	485	Im Durchschnitt 11 Variiert zwischen 9—15	57 Proz.	21 Proz.
55 Min.	6	55	Im Durchschnitt 16 Variiert zwischen 12—38	72 Proz.	44 Proz.
60 Min.	65	497	Im Durchschnitt $17^3/_5$ Variiert zwischen 14—48	21 Proz.	61 Proz.

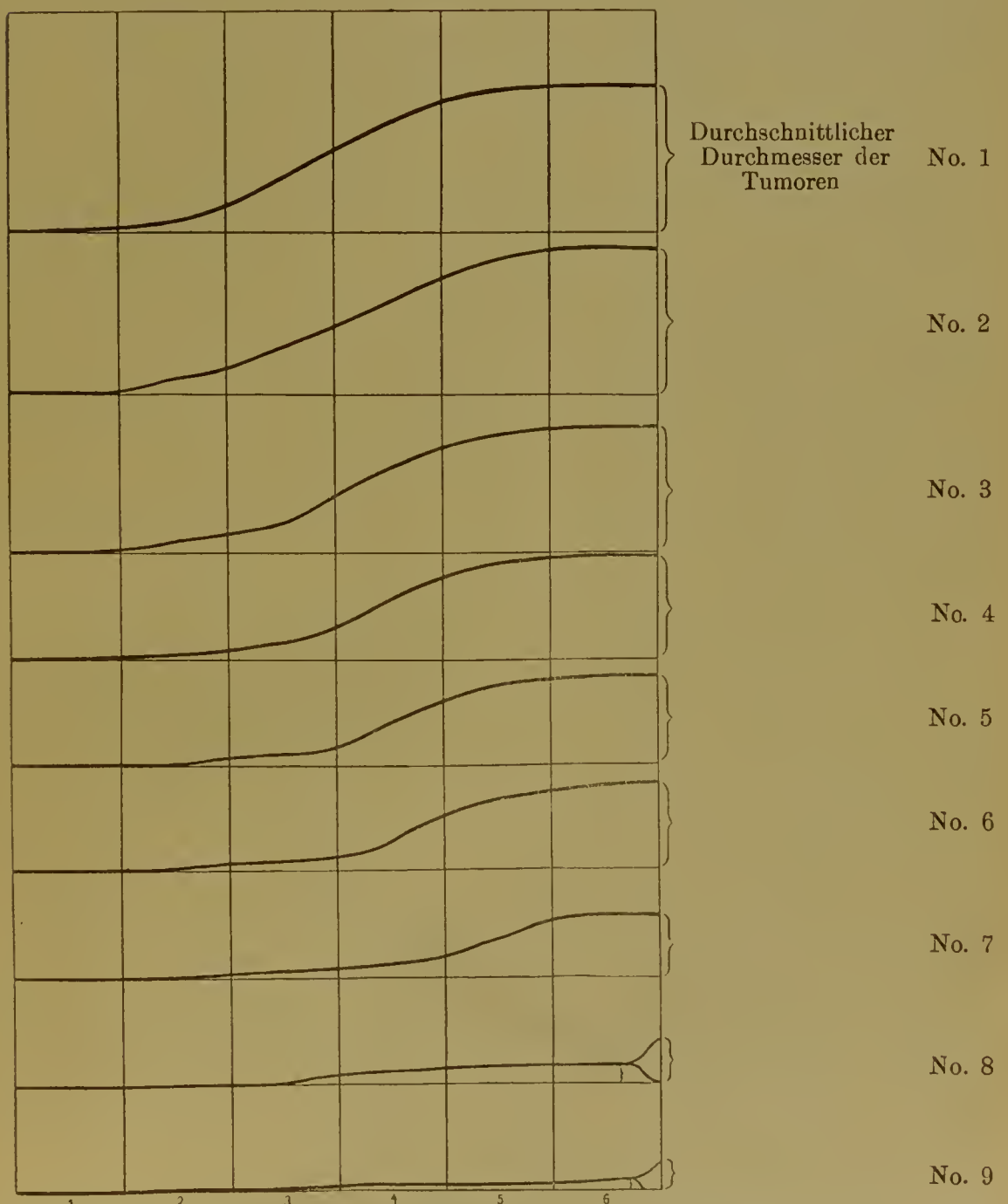
Wochen

Die Abscissen zeigen die Zeit nach der Transplantation in Wochen an, die

Verringerung der Wachstumsenergie näher untersucht werden. Sodann soll die Wirkung in aufeinanderfolgenden Tumorgenerationen wiederholter Schädigungen analysiert werden. Findet hierbei eine Summierung der schädigenden Wirkungen statt? Oder beobachten wir im Gegenteil eine

Figur I.

44° C ausgesetzt waren, auf die Latenzzeit, die Wachstumsenergie der sichtbaren bildenden Tumoren.



Ordinaten den Durchmesser der Tumoren zu den verschiedenen Zeiten unter dem Ein-

allmähliche Adaptierung der Tumorzellen an eine um ein geringes erhöhte Temperatur? Während wir uns im Verlaufe der vor 10 Jahren angestellten früheren Versuche des in der Thyreoidea von Ratten gefundenen Sarkoms bedienten, benutzten wir zu unseren neuen Versuchen ein alveoläres Mäusecarcinom, das sich morphologisch nicht von den von einer Anzahl anderer Forscher benutzten Mäusetumoren unterschied.

Unsere Versuche wurden durchweg in der Weise angestellt, daß wir nach Exstirpation des Tumors verschiedene Stücke in sterilisierter, vorher auf 44° erwärmter 0,85-proz. NaCl-Lösung verschieden lange im Wasserbade auf einer bestimmten Temperatur hielten; diese Temperatur betrug in allen unseren Versuchen 44° C. Wir variierten also die Zeit des Erwärmens und hielten die Temperatur konstant. Nach der Herausnahme aus dem Wasserbade wurden die Stücke sofort abgekühlt, sodann in annähernd gleich große Stücke (62—65 mg) zerschnitten und mittels eines Troicarts in das subkutane Gewebe der linken Axilla eingeführt.

Die folgende Tabelle stellt die wesentlichen Resultate dar, soweit sie sich auf den Einfluß des Erwärmens auf die Wachstumsenergie und das Angehen der übertragenen Tumoren beziehen (s. Tab. I u. Fig. I).

Die Kurven des sichtbaren Wachstums wurden in folgender Weise berechnet: Die Länge der Ordinaten der Wachstumskurven der einzelnen Tumoren wurden in gewissen Abständen der Abscisse, die die Länge der Wachstumszeiten bezeichnete, addiert und durch die Zahl der einzelnen Tumoren dividiert. So erhielten wir den Durchschnitt. Dies wurde in allen Versuchen wiederholt, und schließlich wurde der Durchschnitt des Wachstums in allen Versuchen berechnet.

Die Ordinaten, welche die Wachstumsenergie der einzelnen Tumoren zu bestimmten Zeiten darstellen, wurden dadurch erhalten, daß der Durchmesser der Tumoren zu gewissen Zeiten aufgetragen wurde.

Den Kurven wurde das Wachstum während der ersten 6 Wochen zugrunde gelegt, da zu späteren Zeiten die Mortalität unter den Mäusen zu groß war.

Aus diesen Tabellen ersehen wir die folgenden Tatsachen:

1) Die Länge der Latenzzeiten wächst nicht genau, aber annähernd mit der Länge der Erwärmungszeiten von 15 Minuten bis zu 45 Minuten.

Bei länger dauerndem Erwärmen (von 45 Minuten bis 60 Minuten) ist die Verlängerung der Latenzperioden eine beträchtlichere; dieses Verhalten ergibt sich aus Kurve 1 der zweiten Figur; auf dieser sind auf der Ordinate die Anzahl der Tage der Latenzzeit aufgetragen, während auf der Abscisse die Zeiten des Erwärmens in Minuten verzeichnet sind.

Im einzelnen möge noch folgendes hinzugefügt werden: Nach einer 10—12 Minuten langen Erwärmung ist die Latenzzeit nur wenig verlängert. In einem einzigen Falle dauerte die Latenzzeit 6 Wochen; darauf begann der betreffende Tumor zu wachsen, der Tumor wuchs sehr schnell und es fand eine volle Erholung statt. In nicht erwärmten Tumoren wurde eine so lange Latenzperiode nicht beobachtet. Nach 20—35 Minuten langem Erwärmen ist die Latenzperiode verlängert und in einem Falle betrug dieselbe 2 Monate. Nach 55—60 Minuten langem Erhitzen nimmt dann die Latenzzeit im Durchschnitt stärker zu und besonders wird die Zahl der Tumoren, in denen die Latenzperiode beträchtlich verlängert wird, viel größer.

2) Der Einfluß des Erwärmens auf das sichtbare Tumorwachstum ist in Form der Kurve 2 der zweiten Figur dargestellt. Es ergibt sich hier, daß im allgemeinen die Wachstumsenergie mit zunehmender Länge

des Erwärmens abnimmt. Bis zu 15 Minuten langem Erwärmen ist die Abnahme nur sehr gering, dann wird sie bedeutender, und nach mehr als 45 Minuten langem Erwärmen findet eine steile Abnahme der Wachstumsenergie statt.

Diese Kurve wurde in der Weise erhalten, daß der durchschnittliche Durchmesser der Tumoren nach 6-wöchentlichem Wachstum bestimmt wurde.

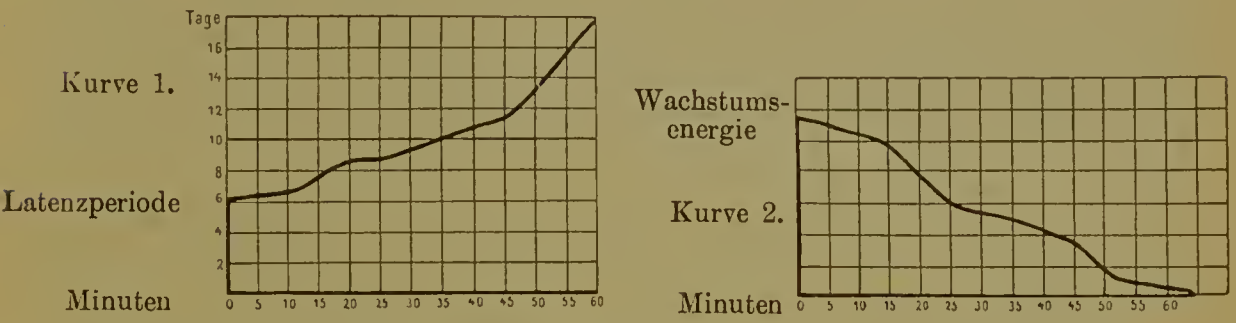


Fig. II.

Die Abscissen zeigen die Zeit in Minuten an, während der die Tumorstücke auf 44° erwärmt wurden, die Ordinaten zeigen in Kurve 1 die Länge der Latenzperioden in Tagen, in Kurve 2 den durchschnittlichen Durchmesser der Tumoren 6 Wochen nach der Uebertragung an.

Im einzelnen wurden noch folgende Beobachtungen gemacht:

10—15 Minuten länges Erwärmen bewirkt nur eine sehr geringfügige Abnahme in der Wachstumsenergie der Tumoren. Oft verhalten diese Tumoren sich so, daß im Anfang des Wachstums die Wachstumsenergie ebenso groß ist, wie in nicht erwärmten Tumoren, daß dann aber allmählich das Wachstum schwächer wird, als in den nicht erwärmten Tumoren. In 5 Versuchen fand sich eine bedeutende Abnahme der Wachstumsenergie und in 4 Versuchen fand sich ein um ein wenig besseres Wachstum als in den nicht erwärmten Kontrolltumoren. Es handelt sich hierbei um natürliche Variationen in der Wachstumsenergie, die sich auch bei nicht erwärmten Tumoren finden. Es wäre irrig, anzunehmen, daß durch sehr geringes Erwärmen das Wachstum der Tumoren verstärkt werden kann[1]). Nach 20 bis 26 Minuten langem Erwärmen ist die Wachstumsenergie deutlich herabgesetzt. Die Wachstumskurve zeigt in diesen Versuchen 2 Perioden. 1) Eine Periode, in der der Tumor langsam wächst. Die Länge dieser Periode ist in den einzelnen Fällen verschieden lang. 2) Darauf folgt sodann meist eine Periode, in der der Tumor sich erholt und wiederum energisch wächst. Diese Tumoren können eine beträchtliche Größe erreichen, aber in der Mehrzahl der Fälle bleiben sie merklich kleiner, als die nicht erwärmten Tumoren (s. Kurve 5, Fig. I).

In einer geringeren Zahl von Fällen kann die Erholung vollständig sein, und im letzten Stadium des Wachstums können solche Tumoren annähernd oder vollständig die Größe nicht erwärmter Tumoren erreichen.

In einer noch geringeren Zahl von Fällen bleibt das Tumorwachstum dauernd schwach, zuletzt kann der Tumor stationär werden, oder sich sogar zurückbilden. Nach 55—60 Minuten langem Erwärmen findet eine

1) Clowes, G. H. A. and Baeslack, F. W., Journ. Experim. Medicine. Vol. 8. 1906 geben an, daß die Waehstumsenergie nieht sehr virulenter Tumoren durch vorhergehendes einstündiges Erwärmen auf 40 oder 41° erhöht werden kann.

sehr beträchtliche Erniedrigung der Wachstumsenergie statt. Erholung ist in solchen Tumoren sehr selten, aber gelegentlich findet völlige Erholung statt und dann kann auf eine Periode sehr langsamen Wachstums eine Periode sehr starken Wachstums folgen. Gewöhnlich ist aber das Wachstum durchweg sehr langsam, und auf diese Periode langsamen Wachstums folgt gewöhnlich eine Periode des „Pendelns", in der Zeiten schwachen Wachstums von Perioden, in der der Tumor stationär ist oder sich zurückbildet, gefolgt werden und diese wieder durch Perioden schwachen Wachstums abgelöst werden. In anderen zahlreichen Fällen folgt auf die Periode schwachen Wachstums Stillstand und vollständige Rückbildung des Tumors. Diese möglichen Verschiedenheiten in den Endperioden werden auf den Kurven 8 und 9 der Fig. I durch mehrere Arme in den Kurven angezeigt.

Im allgemeinen besteht ein deutlicher Parallelismus zwischen den Kurven, die die Latenzperiode und die Energie des sichtbaren Wachstums darstellen.

3) Die Zahl der sich rückbildenden Tumoren ist verschieden, je nach der Länge des Erwärmens. Je länger die Tumorstücke vor der Uebertragung erwärmt worden waren, desto größer ist die Zahl der sich nach anfänglichem Wachstum zurückbildenden Tumoren. Unter den nicht erwärmten Tumoren bildeten sich 1,4 Proz. zurück, mit zunehmender Zeit des Erwärmens nimmt die Zahl der sich zurückbildenden Tumoren ungefähr proportional dem Erwärmen zu; nach 45 Minuten langem Erwärmen ist die Zahl der sich zurückbildenden Tumoren auf 21 Proz. gestiegen; von hier an findet sich, ähnlich wie in der Kurve, die die Latenzperiode und die Wachstusmsenergie als Funktion des Erwärmens darstellen, eine steile Zunahme in der Zahl der sich zurückbildenden Tumoren; nach 55 Minuten langem Erwärmen bilden sich 44 Proz., nach 60 Minuten langem Erwärmen 61 Proz. der Tumoren zurück. Einige kleine Unregelmäßigkeiten in den Zahlen werden dadurch veranlaßt, daß die Zahl der Versuche nicht in jedem Falle gleich groß war. Jedenfalls ergibt sich aus dieser Zusammenstellung ebenfalls, daß schon 10 und 15 Minuten langes Erwärmen die Tumoren schädigt.

Wir bezeichneten in diesen Untersuchungen nur diejenigen Tumoren als sich zurückbildende, die während der ersten 18—20 Tage nach der Inokulation ein, wenn auch geringfügiges, Wachstum gezeigt hatten.

Im allgemeinen stimmen die Kurven für die Wachstumsenergie, Latenzperiode und Zahl der sich zurückbildenden Tumoren als Funktion des Erwärmens gut überein. Bei allen findet sich ein kritischer Punkt zwischen 45 und 55 Minuten des Erwärmens; zu dieser Zeit finden offenbar tiefergreifende Veränderungen in den Zellen statt. Die drei genannten Eigenschaften der Tumoren hängen offenbar alle von ein und derselben Beschaffenheit der Zelle ab, die durch das Erwärmen in gleicher Weise beeinflußt wird.

4) Ueber die Perioden des Wachstums. Bei den nicht erwärmten Tumoren zeigt die Wachstumskurve 3 Perioden: 1) Eine Periode langsamen Wachstums, 2) eine mittlere Periode schnellen Wachstums und eine dritte Periode langsamen Wachstums. Diese S-Figur tritt deutlich in der Kurve der Fig. I hervor; diese letzteren Kurven stellen Durchschnittskurven dar; doch tritt dieselbe Eigentümlichkeit auch in der Mehrzahl der Kurven der einzelnen Tumoren hervor. Vielleicht noch stärker ausgeprägt als in den nicht erwärmten Tumoren tritt diese Kurvenform in den erwärmten Tumoren hervor. Wolfgang Ost-

wald[1]) konstruierte eine ähnliche Kurve auf Grund der Angaben, die er in betreff des Tumorwachstumes in der Literatur fand. Ein ähnliche Kurve scheint nach seinen und Robertsons Berechnungen bei allen Wachstumsprozessen vorzuliegen, und diese Autoren folgern aus diesen Wachstumsverhältnissen, daß autokatalytische Prozesse bei den Wachstumsvorgängen von wesentlicher Bedeutung sind. Nun ist aber ein Einwand möglich gegen diese Deutung, soweit das Tumorwachstum in Betracht kommt. Bei den letzteren spielen nekrotisierende Prozesse eine große Rolle und es mag wohl die allmähliche Verlangsamung des Tumorwachstums durch sekundäre Vorgänge, nämlich Nekrosen, die wiederum zum Teil wenigstens durch ungünstige Vaskularisierung bedingt wird, verursacht werden.

Wie dem auch sein mag, die Regelmäßigkeit dieser S-Kurve ist bemerkenswert.

5) Ueber das Verhältnis der Wachstumsenergie der Tumoren zu der Zahl der erfolgreichen Transplantationen.

Es war von Interesse, festzustellen, wie weit das „Angehen" der Tumoren den Variationen der Wachstumsenergie, der Latenzperiode und der Rückbildung der Tumoren parallel geht. Reihe 5 der Tab. I gibt hierüber Aufschluß. Sie zeigt, daß während mit der Zunahme der Zeit des Erwärmens die Wachstumsenergie stetig abnimmt und die Latenzzeit und die Zahl der sich zurückbildenden Tumoren stetig zunehmen, die Zahl der erfolgreichen Transplantationen parallele Veränderungen nicht zeigt, sondern zwischen 56 und 76 Proz. schwankt. Hierbei ist wegen der relativ geringen Zahl der Versuche mit 10 Minuten langem Erwärmen die hierbei gefundene Zahl der erfolgreichen Uebertragungen nicht berücksichtigt. Erst nach sehr langem Erwärmen (60 Minuten) nimmt die Zahl der erfolgreichen Uebertragungen bedeutend ab. Doch wäre möglicherweise auch bei 55 Minuten langem Erwärmen schon eine Abnahme sichtbar gewesen, falls eine noch größere Zahl von Versuchen, in der das Tumormaterial 55 Minuten lang erwärmt wurde, angestellt worden wäre.

Jedenfalls folgt hieraus, daß die Wachstumsenergie und Latenzdauer ein viel feinerer Maßstab für die Beurteilung der Tumorvirulenz ist als die Uebertragungsfähigkeit; oder besser ausgedrückt, die Wachstumsenergie und die Uebertragungsfähigkeit werden nicht durchweg von den gleichen Faktoren beeinflußt. Hierbei wurden als erfolgreich übertragen alle solche Tumoren bezeichnet, die ungefähr 16—20 Tage nach der Uebertragung noch wuchsen. Natürlich sind hierbei auch die sich später zurückbildenden Tumoren eingeschlossen, da die Rückbildung ein Ausdruck einer relativ geringen Wachstumsenergie ist.

Nur in gewissen Fällen ist der Parallelismus zwischen Wachstumsenergie und dem Angehen der Tumoren deutlicher ausgesprochen, wie aus Tab. II und Fig. III ersichtlich ist. Hier wird die Wachstumsenergie und die Zahl der erfolgreichen Transplantationen bei den nicht erwärmten Tumoren in aufeinanderfolgenden Generationen verglichen, und in der Mehrzahl der Fälle besteht eine gewisse Uebereinstimmung zwischen diesen beiden Faktoren; diese fehlt aber wieder in der Regel, so bald der Einfluß des Erwärmens mit berücksichtigt wird. Aber in anderen Serien ließ sich die hier vorliegende annähernde Uebereinstimmung

1) Ostwald, Wolfgang, Ueber die zeitlichen Eigenschaften der Entwickelungsvorgänge. (Vorträge u. Aufsätze über Entwickelungsmechanik der Organismen. Heft 5.) Leipzig (Wilhelm Engelmann).

zwischen Wachstumsenergie und Prozentzahl der erfolgreichen Transplantationen auch bei den unerwärmten Tumoren verschiedener Generationen nicht beobachten.

Tabelle II.

e- on	Dauer der Erwärmung	Prozentzahl der erfolgreichen Transplantationen
I.	nicht erwärmt	33⅓ Proz.
	26 Min. erwärmt	—
	60 „ „	—
I.	nicht erwärmt	55 Proz.
	15 Min. erwärmt	90 „
	26 „ „	50 „
	60 „ „	78 „
I.	nicht erwärmt	**100** Proz.
V.	nicht erwärmt	56 Proz.
	10 Min. erwärmt	100 „
	35 „ „	84 „
	60 „ „	—
V.	nicht erwärmt	71 Proz.
	35 Min. erwärmt	56 „
I.	nicht erwärmt	**90** Proz.
	35 Min. erwärmt	33 „
	60 „ „	50 „
I.	nicht erwärmt	**100** Proz.
	35 Min. erwärmt	44 „
	45 „ „	—
	55 „ „	—
I.	nicht erwärmt	77 Proz.
	35 Min. erwärmt	83 „
	45 „ „	56 „
	55 „ „	72 „
X.	nicht erwärmt	75 Proz.
	35 Min. erwärmt	97 „
	45 „ „	89 „

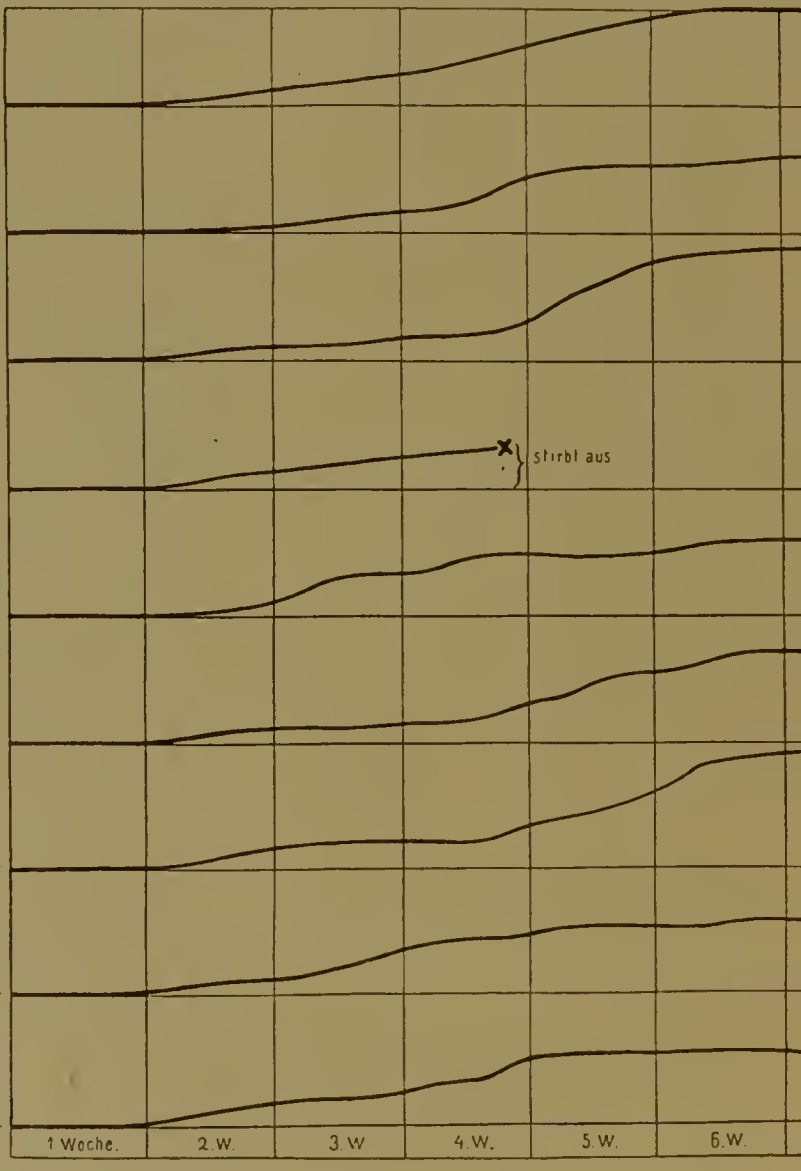


Fig. III.

Kurven der Wachstumsenergie der nicht erwärmten Tumoren der aufeinanderfolgenden Generationen einer Tumorserie. Die Prozentzahl der erfolgreichen Uebertragungen dieser Tumoren findet sich in nebenstehender Tabelle (die betreffenden Zahlen sind fett gedruckt). Die Abscissen bezeichnen die Zeit des Tumorwachstums in Wochen, die Ordinaten den Durchmesser der Tumoren.

Diese Ergebnisse bestätigen die früheren Schlußfolgerungen von Loeb[1]), denen zufolge Angehen der Tumoren und Wachstumsenergie nur zum Teil parallel gehen; das Angehen der Tumoren hängt zum Teil

1) On some conditions determining variations in the energy of tumorgrowth. (Americ. Medicine. Vol. 10. Aug. 12. 1905 u. Zeitschr. f. Krebsforsch. Bd. 7. 1908.)

von der Wachstumsenergie der Tumoren, aber daneben noch von anderen Faktoren ab. Dies war besonders markant in den Transplantationen, zu denen Loeb ein Adenocarcinom einer japanischen Maus benutzte. Hier war die Prozentzahl des Angehens der Tumoren 100, während die Tumoren selbst relativ sehr langsam wuchsen. Und auch hier lag kein Parallelismus zwischen dem Angehen und den Variationen der Wachstumsenergie in den einzelnen Generationen vor. Jedoch wird das Angehen der Tumoren deutlich herabgesetzt, falls die Wachstumsenergie der Zellen durch physikalische Schädigung sehr stark vermindert wird.

6) Das Erwärmen der Tumoren beeinflußt das Wachstum noch in einer anderen Richtung. Falls wir eine größere Zahl von Mäusen mit nicht erwärmtem Tumormaterial inokulieren, finden wir große Variationen in der Wachstumsenergie der Tumoren einer solchen Reihe, obwohl die Mäuse von gleicher Herkunft, gleichem Alter und ungefähr gleichem Ernährungszustand sein mögen. Einige Tumoren zeigen ein rapides, andere nur ein mittleres und der Rest ganz schwaches Wachstum. Wird hingegen eine größere Anzahl von Tieren mit 26—35 Minuten lang erwärmtem Tumormaterial geimpft, so ist die Gleichmäßigkeit des Wachstums in einer großen Zahl von Versuchen überraschend. Dies wird im wesentlichen dadurch bedingt, daß nach dem Erwärmen die Tumoren nicht so schnell wachsen und daher die das Mittelmaß überragenden Tumoren fehlen. Dies bedingt weiterhin, daß die Mortalität unter den mit erwärmtem Material inokulierten Tumoren geringer ist, indem gewöhnlich die Mäuse sterben, falls die Tumoren eine bestimmte Größe überschritten haben.

So mag es denn vorkommen, daß nach 5 oder 6 Wochen in einem bestimmten Versuch der durchschnittliche Durchmesser der 26 oder 35 Minuten lang erwärmten Tumoren ein höheres Niveau erreicht als der der nicht erwärmten Tumoren, da in der letztgenannten Serie die Mäuse, die die am stärksten wachsenden Tumoren trugen, zu dieser Zeit zum Teil schon gestorben waren. Ein Beispiel hierfür gibt die Kurve 8 Fig. VI. Hier ist der Durchschnitt des Wachstums der 35 Minuten lang erwärmten Tumoren in der 5. Woche besser als derjenige der nicht erwärmten Tumoren. Doch ist ein solches Vorkommnis sehr selten.

7) Falls wir eine Reihe von Generationen hindurch Tumoren, die vor der Ueberimpfung erwärmt worden waren, zur Weiterimpfung benutzen, also jedesmal vor der Transplantation den Tumor wieder erwärmen und dadurch in seiner Wachstumsenergie abschwächen, so wäre es denkbar, daß eine Summierung der schädlichen Effekte stattfinde, und so sehr bald das Wachstum zum Stillstand komme. Wir wissen z. B., daß, wenn wir einen Tumor vor der Uebertragung 60 Minuten lang erwärmen, derselbe nach der Uebertragung nicht oder nur schwach wächst und in vielen Fällen sich spontan zurückbildet. Wird nun durch 35 Minuten langes Erwärmen in zwei aufeinanderfolgenden Generationen derselbe Erfolg erzielt, wie durch einmaliges 60 Minuten langes Erwärmen? Fig. VI und VII beantworten diese Frage. Es ergibt sich, daß man 10 oder mehr Generationen hindurch das Tumormaterial regelmäßig vor der Uebertragung erwärmen kann, ohne daß eine Summierung der schädlichen Einwirkungen stattfindet.

Fig. VI zeigt das Wachstum der Tumoren einer solchen Serie von 10 Generationen; die schwarzen Linien zeigen das Wachstum der unerwärmten, die unterbrochenen Linien das Wachstum der erwärmten Tumoren an.

Fig. VII stellt dieselbe Transplantationsserie 6 Wochen nach der Transplantation dar. Auch hier bezeichnen die unterbrochenen Linien die erwärmten Tumoren und die beigefügte Zahl zeigt die Zahl der Minuten an, während der die Tumoren erwärmt wurden. In Fig. VII zeigen die die Spitzen der Ordinaten verbindenden Linien die Tumoren an, die jeweilen zur Transplantation benutzt wurden. Jede Ordinate stellt den durchschnittlichen Durchmesser einer gewissen Zahl von Tumoren dar.

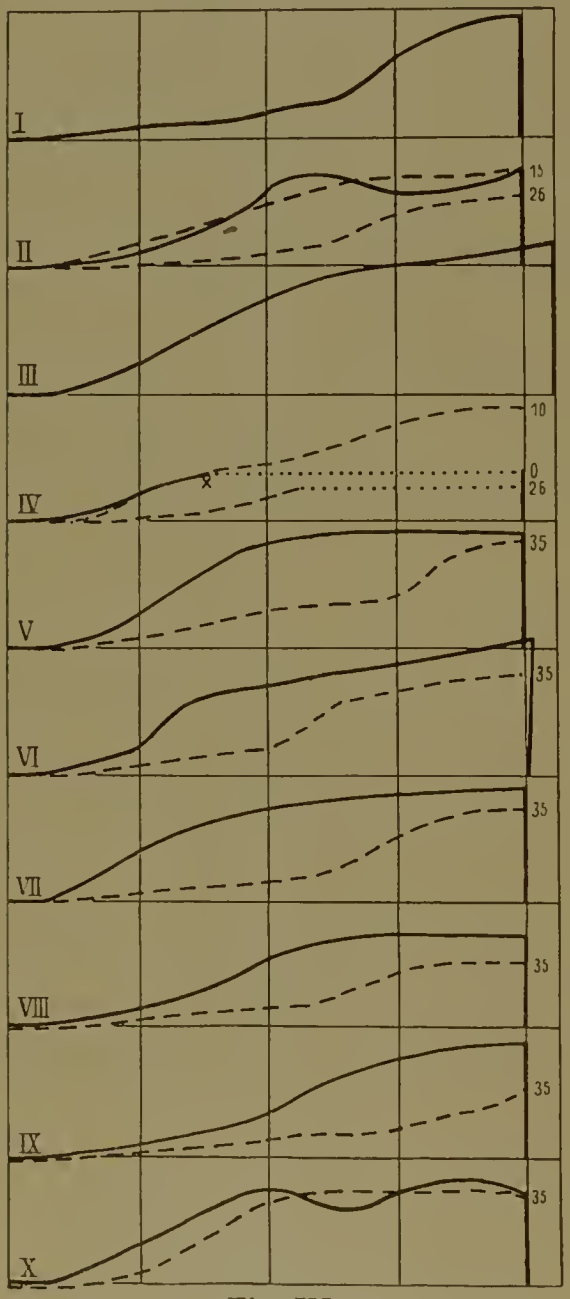


Fig. IV.

Fig. IV und V stellen die entsprechenden Versuche dar, in denen regelmäßig der nicht erwärmte Tumor zur Weiterimpfung benutzt wurde.

Diese Figuren (IV—VII) stellen nur je ein Beispiel dar unter einer Anzahl von Parallelversuchen, die wir gleichzeitig ausführten.

Vergleichen wir die Kurven der Fig. VI und VII untereinander, so ergibt sich, daß keine Summierung der schädigenden Wirkungen stattfindet, und das zeigt sich ebenso klar, wenn wir Fig. VI mit Fig. IV und Fig. VII mit Fig. V vergleichen. Natürlich kommen gewisse Variationen vor, die gerade an einer bestimmten Stelle an den hier wiedergegebenen Kurven deutlich sein mögen; aber falls wir alle Versuche in Betracht ziehen, so ergibt sich, daß die periodische Schädigung der

Die aufeinanderfolgenden Generationen des „St. Lukes“ genannten Zweiges unseres Tumors. Hier wurde jedesmal der nicht erwärmte Tumor zur Uebertragung benutzt. Die schwarzen Linien zeigen die Waehstumskurven der nicht erwärmten Tumoren, die unterbroehenen Linien zeigen die Wachstumsenergie der erwärmten Tumoren an.

Die Abscissen zeigen die Zeit naeh der Uebertragung, die Ordinaten den durehsehnittliehen Durchmesser der Tumoren zu der betreffenden Zeit an. Die römisehen Ziffern bezeiehnen die Zahl der Generationen, die arabisehen Ziffern die Zeit des Erwärmens.

Tumoren das Tumorenwachstum nicht dauernd verändert; daß die durch das Erwärmen gesetzte Schädigung auf eine Reihe von Zellgenerationen übertragen wird, daß dann aber schon in dem Leben des individuellen Tumors, falls die Schädigung nicht zu stark war, die Tendenz vorliegt, sich allmählich zu erholen, und daß nach der Transplantation die Erholung gewöhnlich verwirklicht wird, so daß in der Regel, falls in der fortgesetzt erwärmten Tumorreihe ein Tumor übertragen wird, ohne

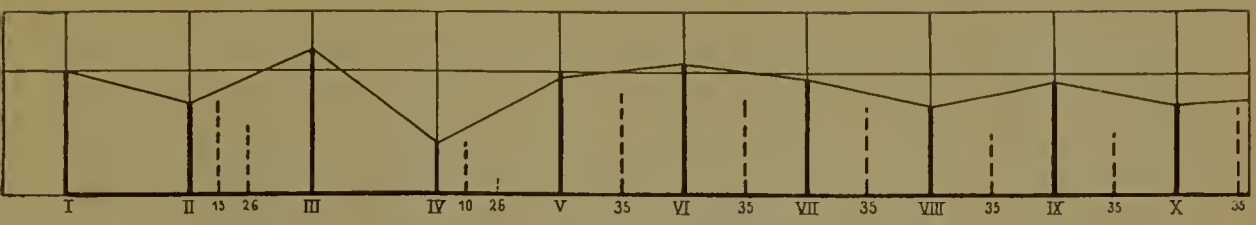


Fig. V.

Fig. V stellt das Tumorwachstum der in Fig. IV dargestellten Serie 6 Wochen nach der Transplantation dar. Die Ordinaten bezeichnen den durchschnittlichen Durchmesser der Tumoren. Die schwarzen Linien stellen die nicht erwärmten, die unterbrochenen Linien die erwärmten Tumoren dar. Die schwarze Verbindungslinie zeigt die zur fortgesetzten Transplantation benutzten nicht erwärmten Tumoren an.

Die römischen Ziffern bezeichnen die Zahl der Generationen, die arabischen Ziffern die Zeit des Erwärmens in Minuten.

dieses Mal erwärmt zu werden, das folgende Wachstum ebenso gut ist, wie in der anderen, nicht erwärmten Tumorreihe. Umgekehrt, falls in der letzteren ein Teil des Tumors erwärmt wird, so leidet er dadurch ungefähr ebenso stark wie die Tumoren der anderen Serie, in welcher jedesmal die Tumoren vor der Uebertragung erwärmt wurden.

Aus diesen Befunden können wir nun noch einen weiteren Schluß ziehen. Wie nach der Transplantation eine Erholung in dem Wachstum des früher durch Erwärmen geschädigten Tumors stattfindet und eine Summierung der schädigenden Wirkungen ausbleibt, so findet umgekehrt eine Immunisierung der Tumorzellen durch das periodisch wiederholte Erwärmen nicht statt. Die niemals erwärmten Tumorzellen reagieren auf Erwärmen in ungefähr derselben Weise, wie die wiederholt vorher erwärmten Tumorzellgruppen. Es findet also keine Adaptierung an das Erwärmen statt. Ebensowenig findet eine Auslese der von vornherein mehr resistenten Tumorzellen statt. Eine künstliche Auslese tritt nicht ein und am Ende der Serie werden die Tumoren ungefähr in derselben Weise durch das Erwärmen beeinflußt wie im Anfang und beide Reihen in ungefähr gleicher Weise.

Im einzelnen wäre nun noch folgendes zu bemerken.

In Fig. VI, Kurve 10 ist das Wachstum der nicht erwärmten Tumoren sehr geringfügig; dies wird dadurch bedingt, daß in diesem Versuch das nicht erwärmte Tumormaterial nicht in amerikanische, sondern in aus Deutschland importierte Mäuse übertragen wurde. Hier fand kein dauerndes Wachstum statt. In Fig. VII ist die Rückbildung der Tumoren durch einen schrägen Strich über der Ordinate angedeutet. So bilden sich z. B. in der 5. und 6. Generation 60 Minuten lang erwärmte Tumoren zurück. In Kurve 10 der Fig. VI zeigt die Abzweigung der Kurve an, daß ein Teil der Tumoren zuletzt seine Wachstumsenergie wieder gewinnt, ein anderer Teil dauernd geschwächt bleibt. Bis zur 6. Generation wurden in der auf Fig. VI und VII dargestellten Serie relativ gut wachsende Tumoren zur Uebertragung benutzt. In den folgenden Generationen wurden absichtlich nicht die gut wachsenden, sondern mittelmäßige Tumoren zur Uebertragung benutzt. Dasselbe geschah in der auf Fig. IV und V dargestellten Serie von der 6. Generation an. In beiden Fällen nimmt die Wachstumsenergie etwas ab von dem Zeitpunkt an, wo die mittleren Tumoren zur Transplantation verwendet wurden, eine Beobachtung, die den Befunden von Ehrlich und Apolant entspricht. Auch auf anderen nicht zur Darstellung gebrachten Serien trat dieses Verhalten auf. Und wenn wir die Gesamtheit der

„nicht erwärmten“ und der „erwärmten“ Serien vergleichen, so ergibt sich wiederum, daß beide sich auch hierin gleich verhalten.

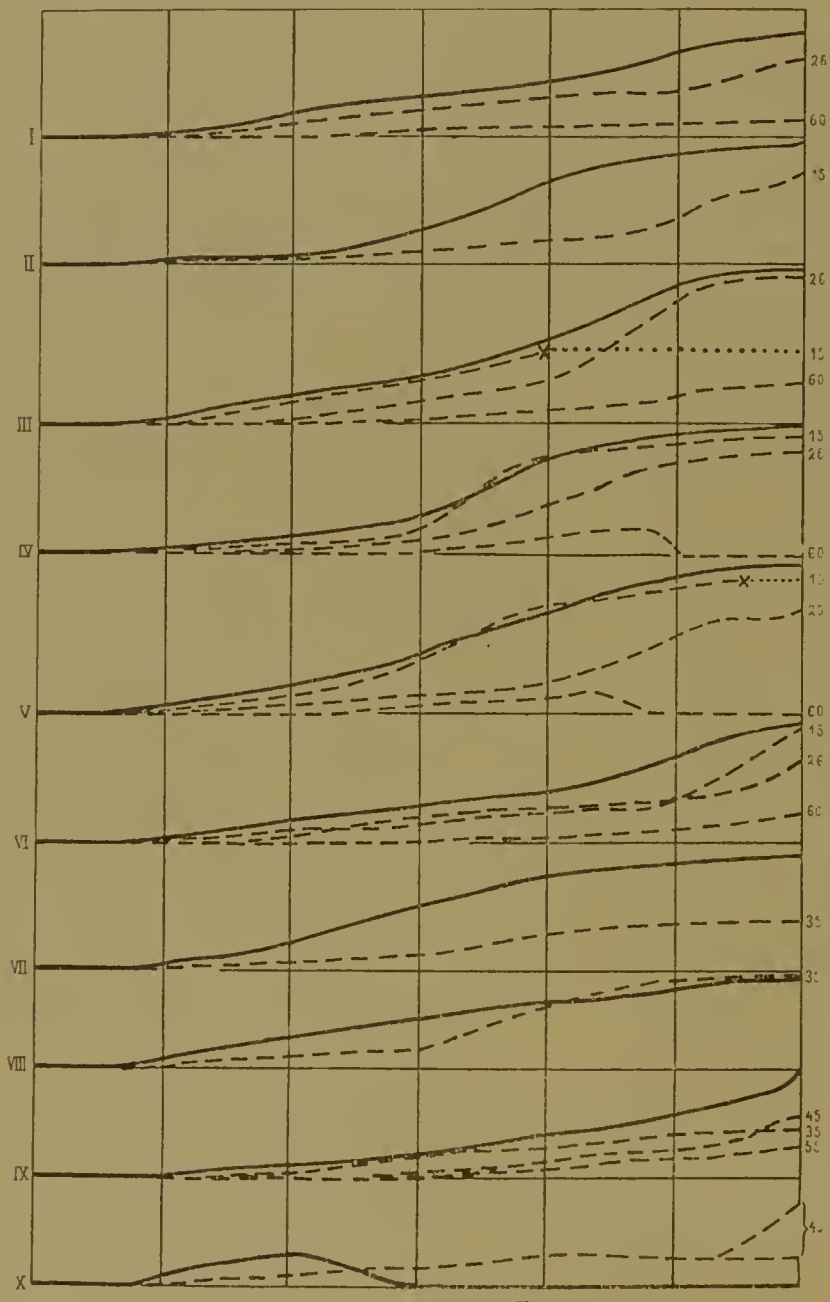


Fig. VI und Fig. VII stellen eine „erwärmte“ Tumorreihe dar. Hier wurden die Tumoren vor der Uebertragung erwärmt. Im übrigen sind die Bezeichnungen dieselben wie in Fig. IV resp. Fig. V.
* Fig. VI: Mäuse sterben vorzeitig.

Fig. VI.

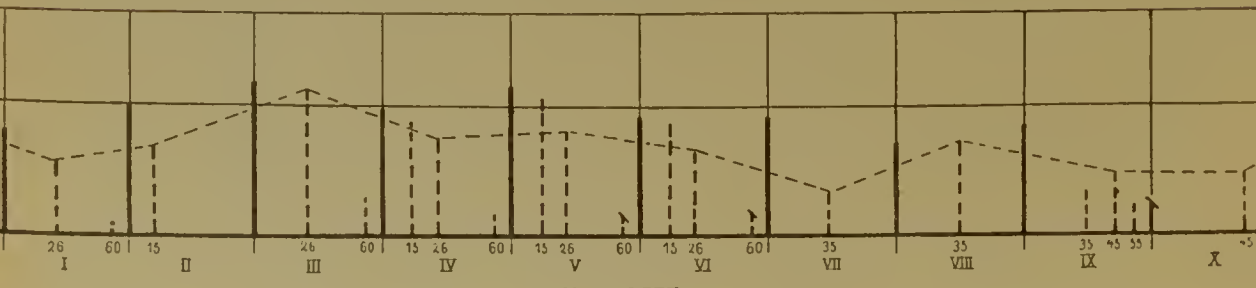


Fig. VII.

Aus Fig. VII ergibt sich noch, daß auch wiederholtes sukzessives Erwärmen während 45 Minuten das Tumorwachstum nicht wesentlich verändert.

Gegen Ende der Kurve der „erwärmten“ Serie (Fig. VII) ist das Wachstum um ein geringfügiges schlechter als auf dem entsprechenden Teil der Kurve der Fig. V (der „nicht erwärmten“ Serie). Aber dieser Unterschied ist gering, und auf anderen nicht zum Abdruck gebrachten Kurven ist das Verhältnis zwischen dem Wachstum der „erwärmten“ und „nicht erwärmten“ Serie gerade umgekehrt.

Auf Fig. V zeigt sich zur Zeit der Uebertragung in die Generation, die hier als die 4. bezeichnet wird (in Wirklichkeit ist der Tumor schon vorher in einer größeren Reihe von Generationen übertragen worden), eine Einbiegung. Diese wird hier dadurch verursacht, daß in diesem Versuch die Mäuse vorzeitig starben und die am Leben gebliebene, einen Tumor tragende Maus zu weiteren Versuchen benutzt wurde.

Wie in den Versuchen früherer Autoren, ergab sich auch hier, daß solche Tumoren, die frühzeitig nach vorgenommener Transplantation zur weiteren Uebertragung benutzt wurden, ein weniger energisches Wachstum in der folgenden Generation zeigten als solche, die zur Zeit der Entnahme zum Zwecke der Transplantation sich in einem späteren Stadium befanden. Es scheint, daß die zweite Periode, in der das Wachstum seinen Höhepunkt erreicht, relativ besseres Tumorwachstum in der folgenden Generation verspricht als die erste oder dritte Periode.

Wir können das Verhältnis der Wachstumsenergie derjenigen Tumoren, die nach vorherigem, eine gewisse Zeit dauerndem Erwärmen wachsen, zu dem Tumorwachstum der nicht erwärmten, von demselben Material abstammenden Tumoren als den „Koeffizient des Erwärmens“ bezeichnen. Dieser Koeffizient variiert innerhalb gewisser Grenzen. Aber im allgemeinen ist er gleich in der „erwärmten“ und der „nicht erwärmten“ Serie und ebenso bei schwächlich und bei gut wachsenden Tumoren unserer Reihen. Im allgemeinen wächst ein Tumor nach dem Erwärmen dann besser, wenn auch der vorher nicht erwärmte Tumor eine größere Wachstumsenergie zeigte.

8) Wir sehen also, daß die Tumorzellen im Laufe der Zeit sich von ihnen zugefügten Schädigungen, falls diese ein gewisses Maximum nicht überschreiten, erholen. Eine solche Erholung wird anscheinend begünstigt durch eine eingeschobene Transplantation. Wir lernen hier also eine weitere Eigenschaft der Tumorzellen kennen, die von großem Interesse ist, nämlich eine außerordentliche Elastizität schädlichen äußeren Einwirkungen gegenüber.

Dieses Verhalten hat nun eine große biologische Bedeutung, wie sich aus folgenden Erwägungen ergibt: Wir haben allen Grund, es für wahrscheinlich zu halten, daß die Tumorzellen unsterblich sind und weiterhin, daß wenigstens die Mehrzahl der Tumorzellen lediglich funktionell modifizierte somatische Zellen darstellen. Den landläufigen Annahmen zufolge sollen nun die somatischen Zellen im Gegensatz zu den Keimzellen sterblich sein. Ein zwingender Grund für diese Annahme wurde bisher nie angeführt. Es scheint uns nun, daß die hier nachgewiesene Fähigkeit der Tumorzellen, sich von periodisch ihnen zugefügten Schädigungen zu erholen, wahrscheinlich auch vielen einfachen somatischen Zellen zukommt. Und gerade solche wiederholten Schädigungen während des Lebens eines Individuums sollten als Beweis dafür dienen, daß die somatischen Zellen sterben müssen.

Unsere neuen experimentellen Befunde stützen die schon vor 9 Jahren von Loeb ausgesprochene Annahme, daß wahrscheinlich viele Arten von somatischen Zellen potentiell unsterblich sind[1]) und sie nur sterben ver-

1) Journ. med. Research. Vol. 6. 1901; Virchows Arch. Bd. 169. 1902.

mutlich deshalb, weil gewisse andere für das Leben des Individuums wichtige Zellen zugrunde gehen und dadurch die Bedingungen, die zum Leben nötig sind, auch den anderen Zellen entzogen werden. Hiermit stimmen auch neuere Befunde überein, die es wahrscheinlich machen, daß die Depressionen im Leben der Protozoen durch ungünstige äußere Bedingungen und nicht durch dem Protoplasma inhärente Eigenschaften verursacht werden.

Einige der Ergebnisse unserer Versuche sollen im folgenden kurz zusammengestellt werden:

1) Im allgemeinen zeigen die Kurven, die die Wachstumsenergie, Latenzzeit und die Zahl der sich zurückbildenden Tumoren als Funktion des Erwärmens darstellen, eine gute Uebereinstimmung. Bis zu einem gewissen Grade der Erwärmung ist der Effekt mit gewissen Abweichungen proportional der Erwärmung. Bei allen Kurven findet sich ein kritischer Punkt zwischen 45 und 55 Minuten des Erwärmens. Nach 55 Minuten langem Erwärmen setzen offenbar tiefergreifende Veränderungen in den Zellen ein. Die drei genannten Eigenschaften des Tumorwachstums hängen daher wahrscheinlich alle von ein und derselben Beschaffenheit des Zellprotoplasmas ab, die durch das Erwärmen in gleicher Weise beeinflußt wird.

2) Die Wachstumsenergie und Latenzdauer stellen ein viel feineres Reagens für auf den Tumor einwirkende schädigende Einflüsse dar, als das „Angehen“ des Tumors. Angehen der Tumoren und Wachstumsenergie gehen nur zum Teil parallel. Das Angehen der Tumoren wird nur dann deutlich herabgesetzt, falls die Wachstumsenergie der Zellen durch physikalische Einwirkungen sehr stark geschädigt wurde.

3) Die Tumorzellen erholen sich im Laufe der Zeit von ihnen zugefügten Schädigungen, falls diese ein gewisses Maximum nicht überschreiten. Die Vererbung des Effektes der Schädigung findet nur durch eine gewisse Zahl von Zellgenerationen hindurch statt. Sodann tritt eine Erholung ein; diese wird begünstigt durch eine eingeschobene Transplantation. Wir lernen hier eine weitere Eigenschaft der Tumorzellen kennen, nämlich eine außerordentliche Elastizität, die ihnen gestattet, sich von schädlichen äußeren Einwirkungen zu erholen.

Eine Summierung schädlicher äußerer Einwirkungen (periodischen Erwärmens vor der Transplantation) findet nicht statt; ebensowenig auf der anderen Seite eine „Angewöhnung“ der Tumorzellen an mäßige Grade des Erwärmens oder eine künstliche Auslese der resistenteren Zellen.

Der Koeffizient des Erwärmens bleibt innerhalb gewisser Grenzen konstant.

4) Es wird ausgeführt, welche Bedeutung diese Versuche haben für die Beurteilung der Hypothese, der zufolge alle somatischen Zellen notwendigerweise sterblich sein sollen und es wird darauf hingewiesen, daß sehr wichtige Tatsachen für die Unsterblichkeit der somatischen Zellen sprechen.